

ICS 65.020.01 (黑体五号)

CCS X XX (黑体五号)

T/GDNB

广东省农业标准化协会团体标准

T/GDNB XXXX—2022

植物缩合单宁的提取和纯化方法

Methods for extraction and purification of condensed tannins from plants

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

广东省农业标准化协会 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广东省农业标准化协会提出并归口。

本文件起草单位：广东省农业科学院动物科学研究所、广东省农业科学院农业质量标准与监测技术研究所、扬州大学、肇庆市佰仕科生物科技有限公司、广州六和饲料有限公司、广东水答案农业科技有限公司、广州汇生饲料有限公司。

本文件主要起草人：彭凯、陈冰、黄文、赵红霞、赵亚荣、黄倩倩、徐有良、刘建高、严伟崇。

植物缩合单宁的提取和纯化方法

1 范围

本文件规定了植物中缩合单宁的提取和纯化的方法。
本文件适用于实验室研究和中试试验。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

DB15/T 1517 从红豆草中提取纯化缩合单宁的方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

缩合单宁 condensed tannins

由黄烷-3-醇通过C-C键缩合而成的多酚类聚合物。

3.2

提取 extraction

通过溶剂或其他方法从物质中制取目标成分的过程。本方法通过有机溶剂浸提法将植物中缩合单宁提取出来。

3.3

纯化 purification

通过物理、化学和生物的方法将多种物质的聚集体变成一类或一种物质的过程。本方法通过凝胶过滤法利用分子筛原理将缩合单宁进行分离。

4 材料与试剂

4.1 材料

按照DB15/T 1517方法准备材料，植物样品可选择晒干、烘干或冻干，用铡刀切碎至约2 cm长，再用粉碎机粉碎（约1 mm长），至于干燥阴凉处，备用。

4.2 试剂

4.2.1 蒸馏水。

4.2.2 丙酮。

4.2.3 维生素 C。

4.2.4 无水乙醇。

4.2.5 乙醚。

4.2.6 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶。

5 仪器与设备

- 5.1 粉碎机（筛孔 1 mm）。
- 5.2 磁力搅拌器（转速范围 0 rpm -1500 rpm）。
- 5.3 旋转蒸发仪（转速范围 20 rpm -300 rpm，控温范围室温-210℃）。
- 5.4 真空冷冻干燥机（冷阱温度达-55℃）。
- 5.5 电子天平（精度 0.01 g）。

6 溶液的配制

6.1 50%丙酮溶液

准确量取500 mL丙酮，加入蒸馏水定容到1000 mL，摇匀，即为1 L 50%丙酮溶液。

6.2 70%丙酮溶液

准确量取700 mL丙酮，加入蒸馏水定容到1000 mL，摇匀，即为1 L 70%丙酮溶液。

6.3 提取液

称取1 g维生素C，加入到1 L 70%丙酮溶液中，摇匀，即为提取液。

6.4 80%乙醇溶液

准确量取800 mL无水乙醇，加入蒸馏水定容到1000 mL，摇匀，即为1 L 80%乙醇溶液。

7 缩合单宁的提取

称取200 g粉碎的植物样品于2 L提取液中，置于磁力搅拌器上避光（锡箔纸包裹）搅拌90 min，经纱布过滤，将滤液与等体积的乙醚溶剂混合，室温下静置，待溶液彻底分层后，弃去上层有机相，保留下层水相溶液。将水相溶液置于旋转蒸发仪（40℃，120 rpm）中蒸发浓缩，充分去除溶于液相中的丙酮。将浓缩液置于真空冷冻干燥机中冻干，即得到植物缩合单宁的粗提物，将粗提物于-20℃避光保存。

8 缩合单宁的纯化

将粗提物溶于200 mL 80%乙醇溶液中，经滤纸过滤，将滤液加入到Sephadex LH-20葡聚糖凝胶中，真空抽滤，反复加入80%乙醇溶液，直至滤液颜色变为无色为止，弃去滤液，用50%丙酮溶液进行洗脱，直至洗脱液变为无色为止，所得洗脱液经旋转蒸发仪（40℃，120 rpm）蒸发浓缩，充分去除浓缩液中的丙酮。将浓缩液置于真空冷冻干燥机中冻干，即得到植物缩合单宁纯品，于-20℃避光保存。

9 注意事项

Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶可重复利用，使用前或使用后需浸泡在 80%乙醇溶液中，使用后置于4℃封口保存。